Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна
Національної академії наук України
17 БЕР 2016 р
Вх.№ 45/03-01

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Гузика Михайла Михайловича** «Полі-ADP-рибозилювання ядерних протеїнів за цукрового діабету», представленої в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Актуальність вибраної теми дисертації. Цукровий діабет (ЦД) є одним із найпоширеніших захворювань населення нашої планети, що є причиною ранньої інвалідності й летальності та супроводжується численними ускладненнями, біохімічною та клітинно-молекулярною основою яких є оксидативні модифікації біомолекул і розвиток оксидативного стресу (ОС), неензиматичне глікозилювання протеїнів, дисбаланс про- та антизапальних цитокінових систем, порушення сигнальних механізмів контролювання клітинних функцій тощо. З'ясування ролі та зв'язку полі-ADP-рибозилювання протеїнів із іншими біологічними процесами за норми та патології, а також функціонального значення залучених до метаболізму полі-ADP-рибози ензимів (наприклад, полі(ADP-рибозо)полімераза–1 або PARP-1) та їх інгібіторів є важливими для розвитку нових підходів до профілактики й лікування різних захворювань, у тому числі ЦД та його ускладнень і тому обрану тему дисертаційної роботи слід вважати актуальною.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційну роботу було виконано згідно з планом наукових досліджень відділу біохімії вітамінів і коензимів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України у відповідності з напрямком науково-дослідних робіт Інституту за темами: "Дослідження молекулярних механізмів реалізації біологічної ролі вітамінів, коферментів та їхніх протеїнів-акцепторів у забезпеченні функціонування та життєздатності клітин за норми та за умов деяких патологій" (2007-2011 рр., державний реєстраційний номер 0107V003251) та "Роль вітамінів А, Е, В1, РР, Д3, убіхінону та їх коферментів у

забезпеченні функціонування спеціалізованих клітин за норми та за умов ініціації їх загибелі" (2012-2016 рр., державний реєстраційний номер 0112U002625).

Мета і задачі дослідження. Перед дисертантом була поставлена мета - з'ясувати особливості перебігу процесів полі-ADP-рибозилювання ядерних протеїнів у тканинах різних органів щурів і їх роль у розвитку цукрового діабету та його ускладнень. Для досягнення мети були визначені такі основні завдання, як: з'ясування гіпоглікемічної, антиоксидантної та протизапальної дії інгібіторів PARP-1: 1,5-ізохіноліндіол (ISO), 3-амінобензамід (3AB) та нікотинамід (NAm), за розвитку експериментального цукрового діабету 1 типу і цитопротекторної - на культурах бета-клітин острівцевих клітин підшлункової залози *in vitro*; оцінка рівня полі-ADP-рибозилювання протеїнів у тканинах серця, печінки та головного мозку щурів за діабету та при введенні інгібіторів PARP-1, а також дослідження ролі процесу полі-ADP-рибозилювання протеїнів у розвитку діабетичної ретинопатії та зв'язок цих білків із NAD-залежним деацетилюванням, ангіогенезом і гліозом.

Із наукової новизни одержаних результатів відразу слід виділити те, що автором вперше було встановлено: на моделі експериментального діабету 1 типу органну специфічність процесу полі-ADP-рибозилювання протеїнів, перебіг якого залежить від інтенсивності розвитку оксидативного стресу, запальних процесів, стану системи антиоксидантного захисту; за активації процесів полі-ADP-рибозилювання та зниженого вмісту NAD^+ відбувається посилення фрагментації PARP-1 та зростання рівня NAD-залежної деацетилази сіртуїну (SIRT2-протеїну), що вказує на глибину розвитку нейродегенеративних змін у мозку; пізні ускладнення ЦД 1 типу супроводжуються патологічними змінами в сітківці ока щурів з діабетом, які зумовлені структурною перебудовою протеїнів цитоскелету та неоваскуляризацією; застосування інгібіторів PARP-1 призводило до часткової або повної нормалізації біохімічних та функціональних порушень, при цьому ефект інгібіторів був найбільш вираженим за ретинопатії; кореляцію між

ступенем фрагментації PARP-1 та гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP), а також за дії інгібіторів нормалізацію ангіогенезу за рахунок підвищення вмісту ангіостатинів у сітківці ока діабетичних тварин.

Із практичної сторони експериментальні результати мають важливе значення для медицини, фармакології та токсикології, оскільки розширюють та поглиблюють сучасні уявлення щодо процесів полі-ADP-рибозилювання у патогенезі цукрового діабету, активація яких може призводити до загибелі клітин у досліджуваних органах та розвитку запальних процесів, а також сприятимуть пошуку нових підходів для корекції виявлених порушень у біооб'єктах з використанням інгібіторів PARP-1.

Стосовно структури та обсягу дисертації слід відзначити, що вона викладена на 140 сторінках друкованого тексту і складається з вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалів і методів дослідження (розділ 2), результатів досліджень, представлених у трьох розділах (3-5), висновків, списку використаних джерел (240 найменувань) та містить 1 таблицю, 52 рисунки.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. За результатами дисертації опубліковано 6 статей у фахових журналах та 10 тез доповідей у збірниках матеріалів конференцій.

Автореферат достатньо відображає найбільш важливі положення дисертації і відповідає її змісту, а зроблені висновки сповна віддзеркалюють досягнення дисертанта.

Поряд з наведеною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід виділити такі основні дискусійні **питання, побажання та зауваження**:

1. Попри важливе теоретичне значення дисертаційної роботи практична цінність роботи полягає тільки в отриманні експериментальних результатів, що розширюють та поглиблюють сучасні уявлення щодо процесів полі-ADP-рибозилювання у патогенезі ЦД, активація яких може призводити до загибелі клітин у досліджуваних органах та розвитку запальних процесів. Результати дослідження сприятимуть пошуку нових підходів для корекції виявлених порушень у досліджуваних об'єктах з

використанням інгібіторів PARP-1 і тому вони мають важливе значення для медицини, фармакології та токсикології. На мою думку, тут були б дуже доречними методичні рекомендації або методичні вказівки, патент на корисну модель на основі власних експериментальних даних або ж пропозиції щодо напрямків перспективних наступних досліджень з метою підготування відповідних матеріалів, наприклад, корисних для клінічної практики.

2. Автореферат (який має бути стислим відображенням дисертаційної роботи) оформлено за розділами згідно традиційної схеми. В авторефераті вказано, що дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів дослідження та їх обговорення, висновків та списку використаних джерел, але оформлення дисертаційної роботи відрізняється від традиційного, тобто відсутність узгодженості оформлення автореферату й рукопису дисертації.
3. Як на мій погляд, оформлення роботи відрізняється від традиційного - розділи подаються в змішаному стилі монографії і традиційної дисертаційної роботи, а саме окремо виділений розділ 2 «Огляд літератури» (зразу ж після «Вступу» в двох підрозділах (2.1-2.2) подані літературні дані стосовно сучасних уявлень щодо передумов розвитку ЦД та його ускладнень і полі-ADP-рибозилювання ядерних протеїнів), а «Результати досліджень та їх обговорення» не виділено як розділ і власне самі результати представлені в наступних розділах (3-5).
4. У рукописі роботи не виділено заключної частини огляду літературних даних, де дисертанту доцільно було б зробити короткий критичний висновок щодо існуючих досягнень в сучасній науковій літературі й акцентувати на доцільності проведення нових власних розробок.
5. Також у дисертаційній роботі відсутній традиційний розділ аналізу та узагальнення результатів досліджень

6. У методичній частині дисертаційної роботи (або ж за презентації доповіді), на мою думку, треба навести загальну схему досліджень для кращого сприйняття виконаної експериментальної роботи.
7. Бажано узагальнити у вигляді схеми теоретичні досягнення власної роботи (і можливо інших літературних джерел) з вивчення особливостей перебігу процесів полі-ADP-рибозилювання ядерних протеїнів у тканинах серця, печінки, мозку та сітківці ока щурів за умов експериментального цукрового діабету 1 типу та продемонструвати їх взаємозв'язок з дією інгібіторів PARP-1 (1,5-ізохіноліндіолом, 3-амінобензамідом та нікотинамідом), що є тканинноспецифічними за ЦД 1 типу та залежать від інтенсивності розвитку оксидативного стресу, запальних процесів, стану системи антиоксидантного захисту.
8. В авторефераті за величиною анотації на українській, російській і англійській мовах однакові, хоча традиційно за вибором автора одна з них мала би бути більшою і детальніше розкривати дослідження.
9. На мою думку, варто звернути увагу на *системну помилку* автора в оформленні списку літератури. Наприклад, у джерелах: (**56**.) *Zhang Z.* Microrna-451 regulates p38 mapk signaling by targeting of ywhaz and suppresses the mesangial hypertrophy in early diabetic nephropathy / Z. Zhang, X. Luo, S. Ding [et al.] // FEBS letters. — 2012. — Vol. 586, No. 1. — P. 20–26. (**107**.) *Bartova E.* Histone modifications and nuclear architecture: a review / E. Bartova, J. Krejci, A. Harnicarova [et al.] // The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society. — 2008. — Vol. 56, No. 8. — P. 711–721. (**118**.) *Davidovic L.* Importance of poly(adp-ribose) glycohydrolase in the control of poly(adp-ribose) metabolism / L. Davidovic, M. Vodenicharov, E. B. Affar, G. G. Poirier // Experimental cell research. — 2001. — Vol. 268, No. 1. — P. 7–13.
10. В авторефераті на стор. 4 допущено помилку в написанні терміну "*внутрішньочеревно*", має бути "внутрішньоочеревинно" і т.п.

Вищенаведені та інші недоліки, побажання й зауваження, які обговорювалися із автором та науковим керівником, не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, адже вони стосуються переважно її оформлення та інтерпретації результатів.

Загальний висновок. Зважаючи на актуальність теми, наукову новизну одержаних даних, їхнє теоретичне і практичне значення, передусім, з'ясування ролі та зв'язку полі-ADP-рибозилювання ядерних протеїнів за цукового діабету з іншими біологічними процесами за норми та патології, а також функціонального значення залученої до метаболізму полі-ADP-рибози полі(ADP-рибозо)полімерази–1 та її інгібіторів, висвітлення у науковій літературі, високий методичний рівень біохімічних досліджень та інші позитивні якості дисертаційної роботи Гузика Михайла Михайловича, вважаю, що вона відповідає вимогам п.п. 11, 12, 13 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013, № 567, а її автор заслуговує на присудження йому наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Доктор біологічних наук,
професор кафедри біохімії
Національного університету біоресурсів
і природокористування України Л. Г. Калачнюк

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Ідентифікаційний код
м. КИЇВ

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
Начальник відділу кадрів
М.В. Михайліченко
«11» 03 2016 р.